

**Bestimmung des Glucuronsäuregehaltes
im Serum und Harn vor, während und nach einer
Glucocorticoidtherapie bei Kindern**

von

Peter K. F. Ng

aus

Manila/Philippinen

1969 # 180

Aus der Kinderklinik der Universität Heidelberg

Direktor: Professor Dr. med. H. Bickel

**Bestimmung des Glucuronsäuregehaltes
im Serum und Harn vor, während und nach einer
Glucocorticoidtherapie bei Kindern**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Peter K. F. Ng

aus

Manila/Philippinen

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät der
Universität Erlangen - Nürnberg.



Dekan: Prof.Dr. A.Kröncke
Referent: Prof.Dr. K. Schreier
Korreferent: Prof.Dr. A.Windorfer
Tag der mündlichen Prüfung: 30. 4. 1969

INHALTSVERZEICHNIS

A. <u>EINLEITUNG</u>	1
B. <u>METHODIK</u>	15
C. <u>PATIENTENGUT</u>	19
D. <u>KASUISTIK</u>	19
E. <u>ERGEBNISSE</u>	27
F. <u>DISKUSSION</u>	30
G. <u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	35
H. <u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	36

A. EINLEITUNG

Die Entdeckung des Penicillins durch Alexander FLEMING im Jahre 1928 brachte die Medizin einen beachtlichen Schritt voran. Die Bedeutung dieser Entdeckung war so groß, daß man ^{von} einer Penicillin-Ära sprach. In der Gegenwart befinden wir uns in einer neuen Ära, der Cortison-Ära. Das Cortison und seine Derivate gewannen in den letzten 10 Jahren in allen Gebieten der Medizin mehr und mehr an Bedeutung; bei vielen Krankheiten ist ihre Anwendung unentbehrlich geworden. Folgende Krankheiten werden durch eine Cortison-Therapie weitgehend eingedämmt und ausgeheilt;

Akutes rheumatisches Fieber und andere rheumatische Erkrankungen,

Iritis,

Kollagenkrankheiten,

heftige allergische Reaktionen wie z. B. schweres Asthma bronchiale, insbesondere Status asthmaticus, nicht toxische Agranulocytose,

ferner Anaphylaxe und hyperergische Reaktionen im Verlauf von Infektionskrankheiten.

Weitere Indikationen sind nephrotisches Syndrom,

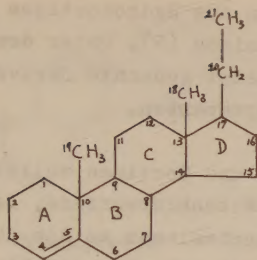
lymphatische Leukämie,

Hepatitis und

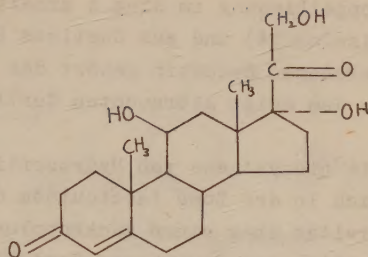
schwere Schockzustände durch Unfälle usw.

Cortison ist ein Glucocorticoid. Die Glucocorticoide sind chemische Abkömmlinge des Δ^4 -Pregnen (1) und tragen in C_3 und C_{20} eine Ketogruppe.

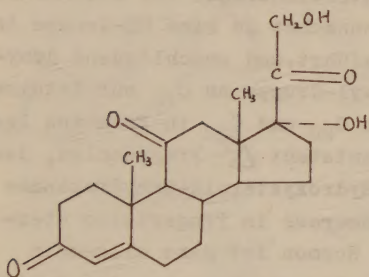
Durch Einführung von Hydroxyl-Gruppen in C_{11} , C_{17} und C_{21} entsteht Hydrocortison (2), das jedenfalls beim Menschen die wesentlich in das Nebennierenrindenblut abgegebene Substanz mit Glucocorticoidwirkungen darstellt. Wird im Hydrocortison die OH-Gruppe in C_{11} zu einer Ketogruppe oxydiert, so entsteht Cortison (3). Durch Einführen einer weiteren



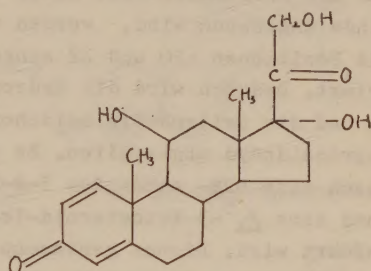
(1) Δ^4 -Pregnen



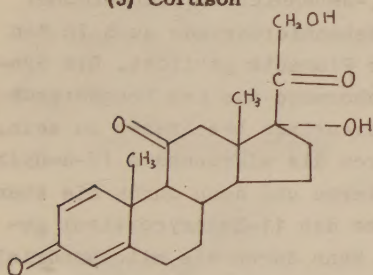
(2) Hydrocortison



(3) Cortison



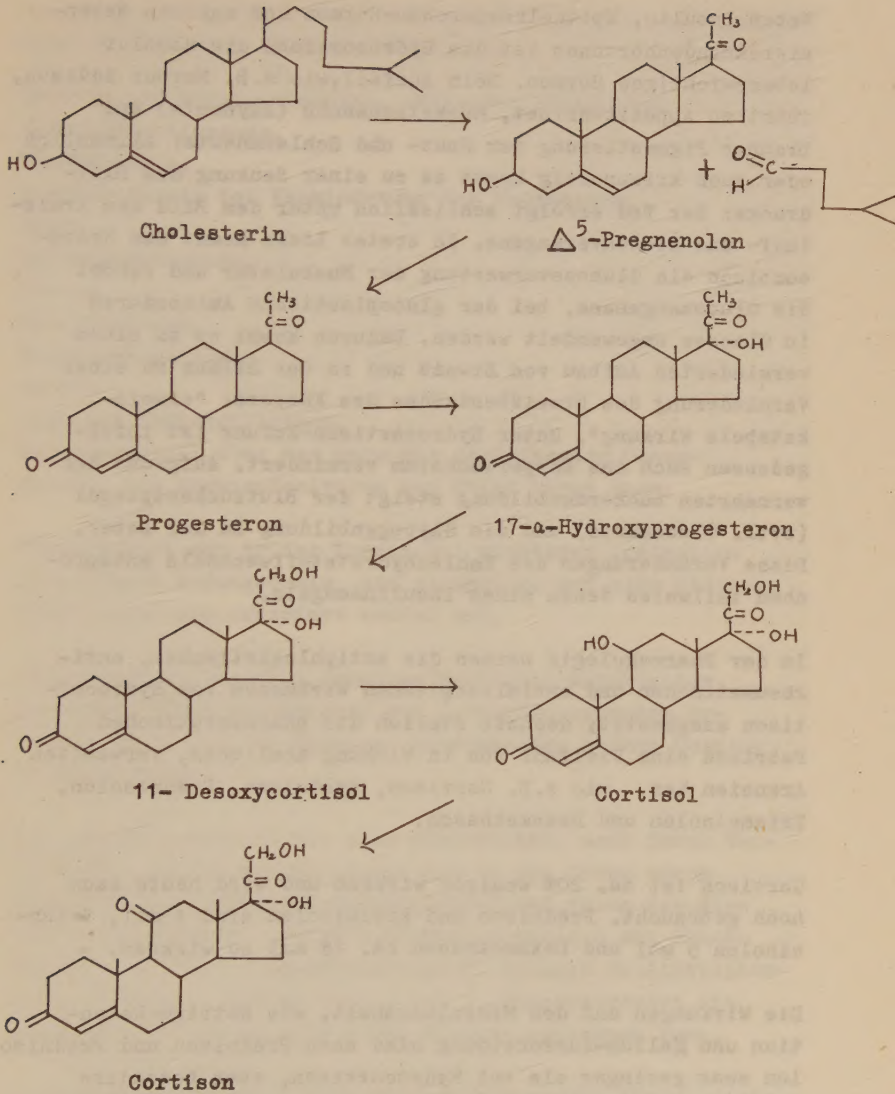
(4) Prednisolon



(5) Prednison

Doppelbindung im Ring A erhält man aus Hydrocortison Prednisolon (4) und aus Cortison Prednison (5). Unter dem Handelsnamen Decortin gehört das zuletzt genannte Derivat auch zu den meist gebrauchten Cortisonpräparaten.

Die Biosynthese von Hydrocortison und Cortison vollzieht sich in der Zona fasciculata der Nebennierenrinde, deren Aktivität über einen Rückkopplungsmechanismus an die ACTH-Inkretion des Hypophysen-Vorderlappens gebunden ist. Die Abbildung 1 gibt eine Übersicht über diesen Vorgang. Am Cholesterin, das als Ausgangsprodukt aller Steroidhormone der Nebennierenrinde angesehen wird, werden zunächst je eine OH-Gruppe in die Positionen 20 und 22 eingeführt, und anschließend dehydriert. Dadurch wird die Hydroxyl-Gruppe an C₂₂ zur Ketogruppe und die Seitenkette zwischen C₂₀ und C₂₂ in Form von Isocapronaldehyd abgespalten. Es entsteht Δ^5 -Pregnenolon, das durch eine DPN-abhängige 3- β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase und eine Δ^5 -3-Ketosteroid-Isomerase in Progesteron übergeführt wird. Dieses gestagene Hormon ist ganz allgemein das gemeinsame Vorprodukt aller Steroid-Hormone, der Oestrogene, der Androgene und der C₂₁-Nebennierenrindenhormone. Progesteron wird außer in der Nebennierenrinde auch in den Ovarien, den Testes und in der Placenta gebildet. Die Synthese der C₂₁-Nebennierenrindenhormone aus dem Progesteron scheint jedoch auf die Nebennierenrinde beschränkt zu sein. Vom Progesteron wird zuerst durch die mikrosomale 17- α -Hydroxylase das 17- α -Hydroxyprogesteron und dann durch die ebenfalls mikrosomale 21-Hydroxylase das 11-Desoxycortisol gebildet. Das 11-Desoxycortisol kann durch die mitochondriale 11- β -Hydroxylase zum Cortisol hydroxyliert werden, das nachfolgend in 11-Stellung dehydriert - kleine Mengen von einer weiteren physiologisch aktiven Substanz, Cortison, liefert. (An dieser Stelle soll ein weiterer Syntheseweg vom Progesteron zum Cortisol erwähnt werden, bei dem die Reaktionskette Progesteron, 11- β -Hydroxyprogesteron, 21-Desoxycortisol, Cortisol angenommen wird).



Abbildungung 1

Neben Insulin, Epithelkörperchen-Hormon und manchen Nebennierenrindenhormonen ist das Hydrocortison ein absolut lebenswichtiges Hormon. Sein Ausfall, wie z.B. Morbus Addison, führt zu Appetitverlust, Muskelschwäche (Adynamie) und brauner Pigmentierung der Haut- und Schleimhäute; allmählich oder auch krisenartig kommt es zu einer Senkung des Blutdrucks; der Tod erfolgt schließlich unter dem Bild des Kreislauf- und Nierenversagens. In erster Linie hemmt das Hydrocortison die Glukoseverwertung der Muskulatur und erhöht die Gluconeogenese, bei der glycoplastische Aminosäuren in Glucose umgewandelt werden. Dadurch kommt es zu einem verminderten Aufbau von Eiweiß und in der Bilanz zu einer Verminderung des Eiweißbestandes des Körpers: "eiweißkatapole Wirkung". Unter Hydrocortison-Zufuhr ist infolgedessen auch das Körperwachstum vermindert. Aufgrund der vermehrten Zuckerneubildung steigt der Blutzuckerspiegel (evtl. Glucosurie) und die Glycogenbildung in der Leber. Diese Veränderungen des Kohlenhydratstoffwechsels entsprechen teilweise denen eines Insulinmangels.

In der Pharmakologie werden die antiphlogistischen, anti-rheumatischen und antiallergischen Wirkungen von Hydrocortison ausgenutzt; deshalb stellen die pharmazeutischen Fabriken eine Vielzahl von in Wirkung ähnlichen, verwandten Arzneien her, wie z.B. Cortison, Prednison, Prednisolon, Triamcinolon und Dexamethason.

Cortison ist ca. 20% weniger wirksam und wird heute kaum noch gebraucht. Prednison und Prednisolon sind 4 mal, Triamcinolon 5 mal und Dexamethason ca. 25 mal so wirksam.

Die Wirkungen auf den Mineralhaushalt, wie Natrium-Retention und Kalium-Ausscheidung sind nach Prednison und Prednisolon zwar geringer als bei Hydrocortison, aber besonders bei längerer Zufuhr doch noch beachtlich. Außerdem können

bei längerer Zufuhr dieser Substanzen folgende, dem Cushing-Syndrom ähnliche, Symptome auftreten:

Natrium-und Wasserretention, evtl. mit Ödemen und
Blutdrucksteigerung,
Hypokaliämie,
Hypertrichosis bei Verminderung des Kopfhaares,
Akne,
Hautpigmentierung,
Striae,
Hautblutungen,
Thrombophlebitis,
ferner
negative Stickstoffbilanz,
Calciumverlust über den Darm mit begleitender Osteoporose, die Spontanfrakturen zur Folge haben kann.

Deshalb gibt man in der Praxis bei richtiger Indikation eine höhere Anfangsdosis, die allmählich auf eine kleinere Erhaltungsdosis reduziert werden muß.

Allerdings bei manchen lebensgefährlichen Krankheiten, die einen hohen Blutspiegel der genannten Arzneien erfordern, muß man den iatrogen entstehenden Morbus Cushing in Kauf nehmen.

Die obengenannten Stoffe sind körperfremd; nach ihrer Verabfolgung werden sie hauptsächlich in der Leber durch Koppelung an Glucuronsäure "entgiftet", und durch die Nieren ausgeschieden. Für die Koppelungsreaktion mit Glucuronsäure ist das gruppenübertragende Coenzym Uridintriphosphat notwendig, das an Stelle des 3. Phosphatrestes ein Zuckermolekül in energiereiche Bindung aufnehmen kann.

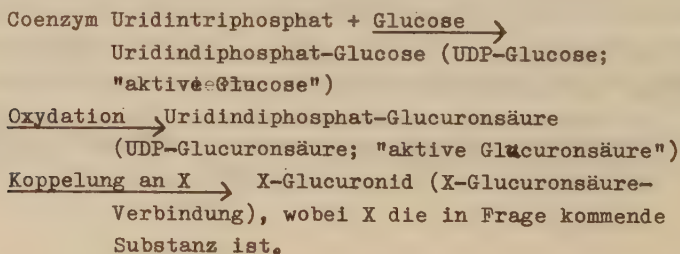
Aus Glycogen entsteht beim glycogenolytischen Abbau primär Glucose-1-Phosphat (nicht freie Glucose), das mit Uridin-

Triphosphat unter Einwirkung der Uridyl-Transferase zu Uridin- Diphosphat-Glucose reagiert, wobei Pyrophosphat frei wird. Glucose-1-Phosphat kann auch aus Glucose-6-Phosphat durch eine einfache Mutase-Reaktion gebildet werden.

Im Fall der Glucose entsteht Uridindiphosphat-Glucose, die als "aktive Glucose" bezeichnet wird. Durch einen Oxydationsvorgang mit Hilfe des Coenzyms Diphosphopyridin-Nucleotid (DPN) unter Mitwirkung eines Dehydrogenase-Fermentes (UDP-Glucose-Dehydrogenase) entsteht aus der "aktiven Glucose" Uridindiphosphat-Glucuronsäure (UDP-Glucuronsäure) oder "aktivierte Glucuronsäure", die zur Koppelung an die zu "entgiftende" Substanz - zur Bildung von Glucuronid - unbedingt notwendig ist.

Die Übertragung der Glucuronsäure aus dem Komplex der "aktivierten Glucuronsäure" auf die zu "entgiftende Substanz" erfolgt mit Hilfe eines Transferase-Fermentes (Glucuronyltransferase). Das damit freigewordene Uridin-Diphosphat kann durch Adenosintriphosphorsäure (ATP) wieder zum Uridin-Triphosphat phosphoryliert werden und steht zur Einschleusung eines neuen Glucose-1-Phosphat-Moleküls bereit (s. Abb. 2).

Die mit Glucuronsäure gekoppelten Verbindungen nennt man allgemein Glucuronide. Sie entsprechen der alten Bezeichnung "gepaarte Glucuronsäuren". Zusammengefaßt wird die Reihenfolge der chemischen Umsetzungen bei der Bildung von Glucuronid folgendermaßen angenommen:



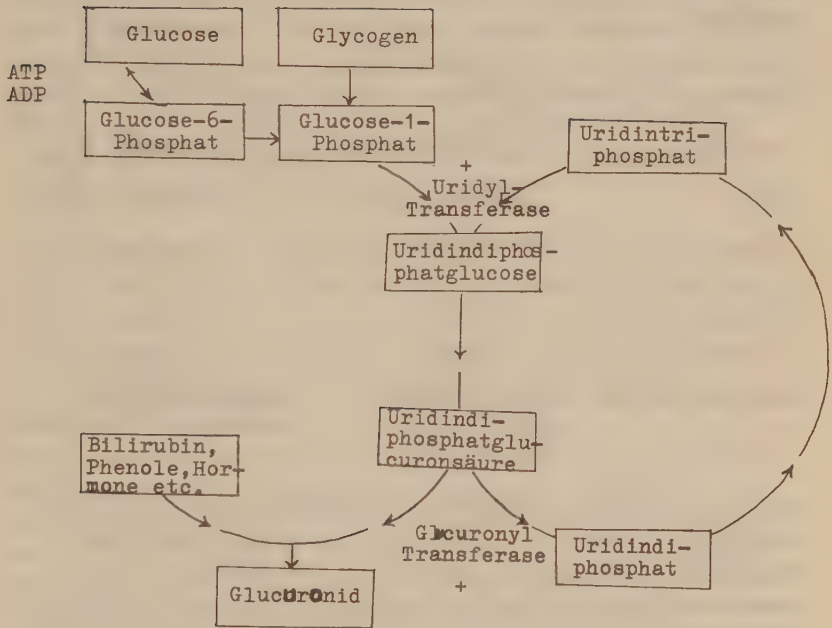
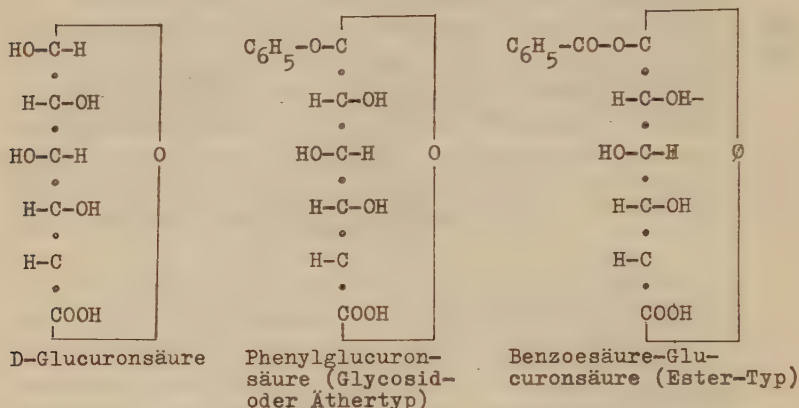


Abb. 2: Glucuronsäure
Synthese und Konjugation

Die Paarung vermittelt das C-Atom !. Für sie bestehen zwei Möglichkeiten: entweder wird ein Alkohol oder eine Säure angelagert, so daß Ätherglucuronsäuren und Esterglucuronsäuren zu unterscheiden sind. Der Glycosidtyp der Glucuronsäure ist viel häufiger als der Estertyp. Die Koppelung mit Glucocorticoiden erfolgt ausschließlich nach dem Glycosidtyp.



Die Zusammenhänge zwischen Glycogen-Gehalt und Glucuronid-Koppelungs-Vermögen der Leber sind aus den in Abbildung 2 dargestellten Vorgängen ersichtlich. Es müssen demnach immer ausreichende Glycogen- und vor allem auch ATP (Energie)-Reserven für die Unterhaltung dieses wichtigen Entgiftungsvorganges in der Leber vorhanden sein. Das an der Glucuronid-Bildung beteiligte Ferment Glucuronyl-Transferase erreicht als "adaptives Ferment" erst einige Zeit nach der Geburt seine volle Aktivität, worauf u.a. die Entstehung des Ikterus neonatorum zurückzuführen ist. In den ersten Tagen nach der Geburt ist die Inaktivierung des Bilirubins durch Glucuronsäure-Koppelung noch gering; das nicht mit Glucuronsäure konjugierte "indirekte" Bilirubin kann nicht ausgeschieden werden. Auch bei einigen anderen Ikterusformen handelt es sich um Fermentstörungen im Uridyl-System.

Nach Verabfolgung von Cortison ist der Gehalt an Cortisonglucuroniden im Blut des Menschen erhöht, und 55% des verabfolgten Cortisons werden als Glucuronide ausgeschieden, davon 90% im Harn und die restlichen in der Galle.

In der Paarung des Cortisons oder anderer Glucocorticoide mit Glucuronsäure spielt die substituierte Gruppe an C₃ eine besondere Rolle; diese substituierte Gruppe ist entweder eine ^aSauerstoff- oder eine Hydroxylgruppe. Auch die synthetischen Glucocorticoide, Prednisolon und Prednison (Decortin), beides 3-Ketosteroide, bilden beim Menschen nach intravenöser Injektion vermutlich auch Glucuronide, aber unter Verankerung an die Hydroxylgruppe an C₂₁.

Es ist interessant zu vermerken: Die Glucuronid-Koppelung findet sich nicht nur beim Menschen, sondern auch bei den meisten Säugetieren, weiter bei Vögeln, Reptilien, Fröschen, nicht dagegen bei Insekten und Pflanzen. Diese konjugieren mit Zuckern anstelle der Glucuronsäure zu Glycosiden.

Wie oben schon ausführlich berichtet, werden die Glucuronide durch Koppelung zwischen einem Alkohol oder einer Säure mit Uridindiphosphatsäure gebildet. Diese Reaktion erfolgt mit Hilfe des Enzyms Glucuronyl-Transferase. Eine funktionelle Minderwertigkeit dieses Enzymsystems und vielleicht ein Mangel an Uridindiphosphatglucuronsäure ist bei neugeborenen Tieren schon beobachtet worden. Da indirektes Bilirubin durch Glucuronyl-Transferase in Bilirubin-glucuronid umgewandelt wird, waren Billing et al. der Meinung, daß die physiologische Hyperbilirubinämie der Neugeborenen die Folge eines Enzymmangels sein könnte.

Neuerdings haben Lathe und Walker festgestellt, daß das Serum schwangerer Frauen einen Hemmeffekt auf die Glucuronidbildung des Bilirubins ausübt.

Hsia et al. untersuchten daraufhin eine Reihe von Substanzen, die nach ihrer Meinung als Hemmfaktoren in Frage kommen könnten.

Mit der Hilfe von Levvy und Storey untersuchte er den Einfluß von Serum auf die Glucuronidbildung des o-Aminophenol in der Rattenleber. Dabei fand er einen $64,0 \pm 21,8$ prozentigen Hemmeffekt des Serums schwangerer Frauen, einen $42,8 \pm 22,5$ prozentigen Hemmeffekt des Serums schwangerer Frauen unmittelbar vor der Geburt und einen $48,2 \pm 20,0$ prozentigen Hemmeffekt des Serums neugeborener Kinder im Gegensatz zum Serum nicht schwangerer Frauen und erwachsener Männer, das keine hemmende Wirkung hat.

Die hemmenden Substanzen im Serum schwangerer Frauen werden durch die Chromatographie und die Infrarotspectrographie im Serumextrakt identifiziert. Es sind Pregnandiol, allo-Pregnantriol und Pregnanolone. Diese drei Substanzen haben auch einen hemmenden Effekt auf die Glucuronidbildung in vitro.

Durch Anregung dieser neuen Erkenntnisse untersuchten Hsia et al. weitere Steroide auf ihren hemmenden Effekt auf die Glucuronidbildung. Die Konzentration einiger Steroide, die einen 50 %igen Hemmeffekt auf die Glucuronyl-Transferase ausüben, werden in der folgenden Tabelle wiedergegeben.

Steroide	Konzentration (10^{-4} molar)
Pregnandiol-32,17 Δ	0,42
Δ^1 - 17 Δ - Methyltestosteron	0,46
Pregnandiol-Glucuronid	1,32
17 Δ - Methyltestosteron	1,80
Progesteron	2,9
Desoxycorticosteron	3,4
17 Δ - Ethyl- 19- nortestosteron	7,5
Östriol-Glucuronid	4,6
17 Δ - Ethyl- Δ^5 -19-norandrosteron	5,5
6 Δ - methylprogesteron	6,6

Cholesterin, Pregnandion, Pregnenolon, 17α -Hydroxyprogesteron, Cortison, Östradiol, Östron und Methylandrostenediol zeigen bis zu einer Konzentration von 10^{-3} molar keinen wesentlichen Einfluß auf die Aktivität der Glucuronyl-Transferase.

Die Glucuronide von Pregnandiol und Östrol hemmen ebenfalls die Aktivität der Glucuronyl-Transferase, allerdings ist dazu eine im Vergleich zu den freien Steroiden etwas höhere Konzentration nötig, um den gleichen Hemmeffekt zu erzielen.

Um das Ergebnis von Hsia zu rarifizieren, untersuchte Rauramo et al. den Einfluß von Östradiol, Testosteron und Progesteron auf die Salicylamidglucuronidbildung bei Hündinnen. Die Versuchstiere wurden in drei Gruppen zu jeweils 10 Hündinnen aufgeteilt: die Östradiolgruppe, die Testosterongruppe und die Progesterongruppe. Die Hündinnen der Östradiolgruppe wurden 14 Tage lang täglich mit 1 mg Östradiolmonobenzoat pro kg Körpergewicht injiziert. Die Hündinnen der Testosterongruppe erhielten 14 Tage lang jeweils täglich 1 mg Testosteronpropionat pro kg Körpergewicht und die der Progesterongruppe 14 Tage lang täglich 2 mg Progesteron pro kg Körpergewicht.

Die freie Glucuronsäure und die gesamten Glucuronide im Serum wurden nach der Fishmann-Green-Methode bestimmt. Die Hündinnen erhielten per os 200 mg Salicylamid pro kg Körpergewicht vor, 3 und 14 Tage ~~lang~~ nach dem Beginn der Hormonbehandlung. Die Serumglucuronide wurden vor, 1 1/2, 3, 4 1/2, 6 und 24 Stunden nach der Salicylamidgabe bestimmt.

Das Ergebnis zeigte, daß die höchste Serumkonzentration der Glucuronide im allgemeinen innerhalb von 1 1/2 - 3 Stunden nach der Verabreichung von Salicylamid erreicht ist. Außerdem haben die Hormone keinerlei Einfluß auf den Glucuronidspiegel im Serum.

Da dieses Ergebnis nicht mit dem von Hsia übereinstimmte, nahm Rauramo an, daß die Störung der Glucuronidbildung während der Schwangerschaft nicht durch Östradiol, Testosteron oder Progesteron bedingt wird.

Nachdem Hsia über die Hemmwirkung des Serums auf die Glucuronidbildung (siehe oben) berichtet hatte, unternahmen M. Pulkkinen und L. Rauramo erneut ein ähnliches Experiment.

Bei 6 Frauen entnahmen sie Serum am 5. , 15. und 25. Tag des weiblichen Zyklus und bei 8 Frauen gegen Ende der Schwangerschaft. Zum Vergleich wurde sowohl Serum von Männern als auch reines Wasser verwendet. Nach der Methode von Levvy-Storey wurde das Serum an Meerschweinchen verabreicht und die in der Leber vollzogene Glucuronidbildung des o- Aminophenol, das den Meerschweinchen vorher zugeführt worden war, untersucht.

Nach diesem Ergebnis scheint es nicht möglich zu sein, einen eindeutigen Hemmeffekt auf die Glucuronyl-Transferase im weiblichen Serum nachzuweisen. Die verschiedenen Phasen des Menstruationszyklus oder der Schwangerschaft haben ebenfalls keinen Einfluß auf dieses Phänomen.

Die Untersuchung von Beck hat gezeigt, daß nach Verabfolgung von Glucocorticoiden die Entgiftungstätigkeit, allerdings nur bei Kaninchen, sogar erhöht ist. Er hat die Untersuchung in 2 Teilen durchgeführt.

Im 1. Teil wurden nüchterne Kaninchen mit jeweils 100 mg Glucocorticoiden i. v. injiziert; gleichzeitig erhielten die Tiere jeweils 1 g N-acetyl-p-aminophenol in 50 ml körperwarmen Wasser gelöst durch die Schlundsonde. Danach wurde stündlich bis zu 3 Stunden der Glucuronidspiegel des N-acetyl-p-aminophenol sowohl im Plasma nach dem als Mikromethode modifizierten Verfahren von Fishmann und Green als auch im Urin nach der Methode von

Dische bestimmt. Das Ergebnis zeigte, daß es innerhalb der ersten 3 Stunden noch zu keiner Beschleunigung der mit N-acetyl-p-aminophenol angeregten Glucuronidbildung führte. Im Gegenteil bewirkte die Glucocorticoidgabe eine Retention der Glucuronide im Blut und eine Ausscheidungseinschränkung der gleichen im Harn.

Im 2. Teil hat Beck seine Untersuchung wiederholt, um einen Glucocorticoid-Späteffekt festzustellen. Kaninchen, die nach einer 36stündigen Hungerperiode mit N-acetyl-p-aminophenol belastet wurden, bildeten beschleunigt gepaarte Glucuronsäuren, wenn sie 12 Stunden zuvor Glucocorticoide intravenös erhalten hatten. Auch die Ausscheidung der gepaarten Glucuronsäuren durch die Niere wurde nicht mehr wie unter der früheren Glucocorticoidwirkung gehemmt, sondern eher gefördert.

Beck hat weiter gezeigt, daß die vermehrte Glucuronidausscheidung im Harn vor allem auf eine verstärkte Elimination durch die Nieren und nicht auf eine vermehrte Glucuronidbildung in der Leber zurückgeführt werden muß.

Er begründet seine Behauptung folgendermaßen: Nach mehrmaliger Vergiftung der Tiere mit Tetrachlorkohlenstoff, einem bekannten Lebergift, ist der Effekt der Glucocorticoide auf die Glucuronidsynthese nicht mehr eindeutig nachweisbar; die Hormoneinwirkung führt aber trotzdem zu einer verstärkten Ausscheidung von gepaarter Glucuronsäure im Harn.

B. M E T H O D I K

Die quantitativen Bestimmungsmethoden der Glucuronsäure gründen sich ^{auf} 3 Prinzipien:

1. Durch Erhitzen mit konzentrierter Mineralsäure wird Glucuronsäure in Furfurol und Kohlensäure überführt. Die dadurch entstehende Kohlensäure wird in Lauge abgefangen und titrimetrisch gemessen.
2. Die Glucuronsäure besitzt, wie Zucker, die reduzierende Gruppe $-CHO$; sie kann dementsprechend auch durch verschiedene Reduktionsmethoden quantitativ bestimmt werden.
3. Die 3. quantitative Bestimmungsmethode entspricht der 1. Methode, nur mit folgendem Unterschied: das gebildete Furfurol wird nach einer geeigneten Farb-reaktion (Oxybinaphthylfurfurylmethan) kolorimetrisch gemessen.

Nach unserer Erfahrung scheint uns die letztgenannte Methode am geeignetsten, deshalb haben wir sie auch bei unseren experimentellen Untersuchungen angewandt.

Apparate:

1. Zentrifuge
2. Glasröhrchen
3. Meßgläser
4. Elektrophotometer
5. Autoklav

Reagenzien:

1. 10%ige Na-Wolframatlösung
2. Aqua dest.
3. 2/3n - Schwefelsäure

4. Naphthoresorcinlösung:

50 mg Naphthoresorcin werden in 25 ml Aqua dest. durch Erhitzen gelöst; nach dem Erkalten wird wieder bis auf 25 ml mit Aqua dest. aufgefüllt. Bei 0°C ist die Lösung 24 Stunden haltbar.

5. Konzentrierte Salzsäure

6. 96%iger Äthylalkohol oder absoluter Alkohol

7. Äther

8. Eichlösung:

0,2 g reinstes Glucuronsäurelacton wird in Aqua dest. gelöst und auf 500 ml aufgefüllt; von dieser Stammlösung werden durch weitere Verdünnungen Lösungen von 2,5 - 200 γ /ml hergestellt. (Synthetisch wird Glucuronsäure- γ -lacton durch die Abspaltung eines Moleküls H_2O von D-Glucuronsäure gewonnen).

Ausführung:

1. Vorbereitung der zu untersuchenden Lösungen.

a) Eiweißgebundene und nicht eiweißgebundene Glucuronsäure im Serum:

0,2 ml Serum mit 1,2 ml Aqua dest. unter gutem Mischen verdünnen (Serum in Aqua dest. träufeln), 0,2 ml 10%iges Natrium-Wolframat und 0,2 ml 2/3 n Schwefelsäure zugeben. Nach einigen Minuten wird zentrifugiert. Im Überstand befindet sich die nicht eiweißgebundene Glucuronsäure. Das Sediment wird mit 0,4 ml 2/3 n Schwefelsäure gewaschen, einmal zentrifugiert, und danach bei 110°C getrocknet, es werden 2 ml n HCl zugegeben und 4 Stunden im zugeschmolzenen Röhrchen erhitzt, dann im Überstand, in dem sich die eiweißgebundene Glucuronsäure befindet, die Farbreaktion mit Naphthoresorcin angestellt.

b) Harn:

24 Stunden-Urin wird 50-fach verdünnt.

2. Farbreaktion mit Naphthoresorcin:

Man nimmt 2 cm³ der zu untersuchenden Lösungen, gibt 2 cm³ Naphthoresorcin und 2 cm³ konzentrierte Salzsäure dazu und erhitzt 30 Minuten in kochendem Wasserbad. Sodann wird das Reaktionsgemisch durch Einstellen im Eiswasser gekühlt und nach ca. 5 Minuten 2 cm³ 95%iger Alkohol hinzugegeben. Das Gemisch wird in einem kleinen Scheidetrichter zunächst mit 10 cm³, danach mit 5 cm³ Äther ausgeschüttet, beide Ätherextrakte werden vereinigt und auf 15 cm³ mit Äther aufgefüllt, anschließend wird die Lösung mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Die Farbsintensität der wasserfreien ätherischen Lösung wird bei 580 mμ photokolorimetrisch gemessen.

3. Prinzip der Photokolorimetrie:

Bei der Photokolorimetrie werden die Konzentrationsbestimmungen mit Licht einer ganz bestimmten Wellenlänge (monochromatisches Licht) ausgeführt. Für solche Untersuchungen wird das monochromatische Licht durch eine Meßgruppe bekannter Schichtdicke geleitet. Es gilt dann festzustellen, wie stark die Lichtdurchlässigkeit der Meßprobe oder die Schwächung des Lichtes beim Durchtritt durch die Meßprobe ist. Diese Durchlässigkeit ist definiert durch das Verhältnis I/I_0 . Es bedeutet I/I_0 der eingestrahlte Lichtstrom und I der durchtretende Lichtstrom.

Zwischen der Durchlässigkeit und der Konzentration besteht ein exponentielles Verhältnis, das im Lambert-Beer'schen Gesetz ausgedrückt wird:

$$1. \quad I/I_0 = e^{-c \cdot d \cdot \epsilon} \quad \text{oder} \quad I/I_0 = 10^{-c \cdot d \cdot \epsilon}$$

Dabei ist c die gesuchte Konzentration des untersuchten Stoffes, d die Schichtdicke der Meßprobe in cm, ϵ der Extinktionskoeffizient für den natürlichen Logarithmus (zur Basis e), ϵ der dekadische Extinktionskoeffizient.

Um die gesuchte Konzentration c aus dem Exponenten zu schaffen, wird die Gleichung 1 logarithmiert:

$$2. \quad -\log I/I_0 = E = c \cdot d \cdot \epsilon$$

Dieser negative dekadische Logarithmus der Durchlässigkeit (I/I_0) ist die Extinktion E . Die Extinktion ist also linear abhängig von der Konzentration c , von der Schichtdicke d und dem Faktor ϵ . Dieser Faktor ist eine charakteristische Größe für die untersuchte Substanz bei einer bestimmten Wellenlänge des Lichtes und wird der Extinktionskoeffizient genannt.

Zur Ermittlung der Konzentration wird die Gleichung (2) nach c aufgelöst:

$$3. \quad c = \frac{E}{d \cdot \epsilon}$$

Bei den modernen Photometern kann mit Hilfe von Photozellen die Lichtstärke als Durchlässigkeit in Prozent und gleichzeitig mit Hilfe einer logarithmischen Skaleneinteilung die Extinktion direkt abgelesen werden.

Da die zum Photometer gehörende Küvette für die Meßprobe eine konstante Breite hat, ist die Schichtdicke " d " in der Gleichung (3) auch konstant. Folglich ist c proportional zu E .

Jetzt bereiten wir Lösungen von verschiedenen Konzentrationen eines bestimmten Stoffes vor; durch photometrische Bestimmung finden wir für jede Lösung eine entsprechende Extinktion. Aus diesen Werten läßt sich eine Eichkurve in das Koordinatenkreuz zeichnen. Von bestimmten Extinktionswerten der Eichkurve aus können wir jetzt unbekannte Konzentrationen einer Lösung des gleichen Stoffes ablesen.

C. PATIENTENGUT

Alle Untersuchungen wurden in der Kinderklinik der Universität Heidelberg bei insgesamt 11 Kindern durchgeführt. Bei den Patienten handelt es sich um 7 Jungen und 4 Mädchen mit einem Durchschnittsalter von 5 1/5 Jahren. Die Altersstrebweite lag zwischen 1/12 und 12 7/12 Jahren.

D. KASUISTIK

Fall 1: St.C. - geb. 24.12.1964 -

In der Familien-Anamnese sind bei mehreren Mitgliedern sog. "Zahnkrämpfe" bekannt. Bei dem Kind wurde am 9. Lebens- tag erstmals ein Anfall mit Rotwerden, Luftanhalten und krampfhaftem Hochwerfen der Arme beobachtet. Diese Zustände ließen sich auch durch Berührung des Kindes auslösen. Daraufhin erfolgte die Einweisung in die Kinderklinik Konstanz. Dort seien tonisch-klonisch generalisierte Krampfanfälle beobachtet worden. Nach anfänglicher Besserung unter der Behandlung mit Urbaxson und Comitol-D traten erneut generalisierte Zuckungen auf. Zur Aufklärung der Diagnose wurde das Kind am 11.9.65 in die Kinderklinik Heidelberg verlegt. Bei der Aufnahme machte das pastöse, geistig und körperlich unterentwickelte Kind einen schwer cerebrally geschädigten Eindruck. Es zeigte keinerlei Kontakt mit der Umwelt. Der Muskeltonus war generalisiert gesteigert, ebenso die Extremitäten-Reflexe mit unerschöpflicher Fußklonie rechts, erschöpflicher Flußklonie links.

Die routinemäßigen Laboruntersuchungen ergaben keinen pathologischen Befund. Die lumbale Luftencephalographie zeigte einen Hydrocephalus internus bei fehlender Oberflächenfüllung.

Aufgrund der häufigen Salaam-artigen Krampfanfälle und des gehäuftten Erbrechen führten wir erneut eine Urbason-Behandlung unter der Diagnose BNS-Krämpfe durch. Unter dieser Be-

handlung ⁵si tierten die Krampfanfälle dauerhaft, auch das EEG zeigte nach 14-tägiger Urbanxon-Behandlung ein Verschwinden der Krampfaktivität. Am 13.11.1965 erfolgte die Entlassung in ordentlichem AZ bei unverändertem neurologischen und psychomotorischen Befund.

Fall 2: M.L. - geb. 17.10.1965 -

Der weibliche Säugling kam am 27.8.65 im Alter von 6 Wochen wegen Lymphknotenschwellung zur Aufnahme. Bei der Durchuntersuchung fand man generalisierte Lymphknotenschwellungen von Linsen- bis Pflaumengröße; die Leber und Milz waren leicht vergrößert.

Das Ergebnis der Laboruntersuchungen ist folgendes:

BKS 20/40

Erys 2,9 Mill

Leukos 17 600

im Differentialblutbild: 7 atypische Zellen

Gesamteiweiß von 4,4 g% mit Hypoalbuminämie,

leichte α -, γ -Globulinvermehrung, Linksverschiebung der Neutrophilen Granulopoese bei relativer Unterwertigkeit der Erythropoese.

Aufgrund des klinischen Bildes, der systematischen Mineralisationsstörung in den Metaphysen und der chronischen Verlaufsform wurde eine Retikuloze als Verdachts-Diagnose festgestellt. Trotz intensiver Behandlung mit Decortin unter Abschirmung mit Breitband-Antibiotika war der Verlauf progressient. Der Exitus erfolgte am 8.2.1966 unter dem Zeichen einer respiratorischen Insuffizienz.

Fall 3: K.K. - geb. 7.6.1962 -

8 Tage vor der stationären Aufnahme am 20.1.66 bemerkte die Mutter einen trüben Urin des Kindes. Einige Tage später traten Schwellungen der Leber hinzu, Schmerzen im rechten Knie und Appetitlosigkeit folgten.

Bei der Durchuntersuchung fand man bei dem Jungen Lidödeme, Ödeme der Handrücken, sowie prätibiale Ödeme. Die Leber ist 1 cm unterhalb des Rippenbogens zu tasten.

Urinbefund bei der Aufnahme:

Albumin-positiv

Urobilinogen-negativ

Saccharum-negativ

Sediment - hyaline und granulierte Zylinder, vereinzelt
Leukozyten

Esbach - 7,5‰.

Unter die Diagnose :Nephrose hat man mit Cel^estan-Behandlung begonnen. Die Ödeme haben wir mit Lasix und Aldactonen ausgeschwemmt. Da der Eiweiß-Befund im Urin sich besserte, wurde der Junge mit einer niedrigeren Celestan-Erhaltungsdosis am 6.3.66 nach Hause entlassen.

Fall 4: I.S. - geb. 6.2.1963 -

Vor der Aufnahme erkrankte die Patientin an Masern, anschließend habe sie sehr schlechten Appetit und häufiges Erbrechen nach den Mahlzeiten gehabt. Der Hausarzt stellte bei regelmäßig durchgeführten Urinkontrollen Esbachwerte zwischen 0,8‰ und 1,5‰ fest. Unter dem Verdacht einer Nephropathie wurde das Kind am 18.12.66 in unsere Klinik eingewiesen.

Entsprechend dem klinischen Bild und den Laborwerten, die wir durchgeführt haben, hat sich die Diagnose bestätigt. Bei dem Kind handelt es sich um eine chronische Nephritis mit nephrotischem Einschlag mit Übergang zu Schrumpfnieren.

Da es interkurrent zu leichten Fußödemen kam, wurde eine Decortin-Behandlung notwendig, die aber nach etwa 14 Tagen wegen starker Rest-N-Erhöhung - Zeichen einer ausgeprägten glomerulären Schädigung - wieder abgebaut werden mußte. Das Kind wurde am 11.1.66 in befriedigendem Zustand nach Hause entlassen.

Fall 5: - T.O. - geb. 14.7.1953 -

Das Mädchen kam am 7.12.65 zur Klinikaufnahme wegen Gelenkbeschwerden von wechselnder Lokalisation.

Bei der Durchuntersuchung fand man lediglich eine kleinapfelgroße, weiche Struma und endgradige Bewegungseinschränkung bei der Beugung des rechten Ellenbogengelenkes. Sonst bestand kein auffälliger Befund. Die Laboruntersuchung ergibt folgende Daten:

BKS 58/81

Hb 87%

Leuko 4 700

Antistreptolysin-Reaktion mit 8 E positiv

C-reaktives Protein negativ

Das Elektrophorese-Diagramm zeigte eine starke Abnahme des Albumins und Zunahme des γ -Globulins.

α -2- und β -Globuline waren gering erhöht

Die Behandlung wurde ^{mit} Decortin, Aspirin und Penicillin durchgeführt. Sie führte innerhalb weniger Tage zur subjektiven Beschwerdefreiheit und innerhalb von 3 Wochen zur Normalisierung der BKS. vor der Entlassung am 1.2.66.

Die Annahme einer rheumatoiden Arthritis hat sich bestätigt.

Fall 6: B.A. - geb. 3.10.¹⁹62 -

Vor der Aufnahme am 18.1.1966 habe der Patientin die Schluckimpfung gegen Polio durchgeführt. 3 Tage später fielen der Mutter rote Flecken an beiden Unterschenkeln auf. Außerdem sei das Kind auffällig schlaff, müde und appetitlos gewesen.

Bei der Aufnahmeuntersuchung sah man linsengroße Hautblutungen an den unteren Extremitäten und an den Armen. Außerdem fiel der RUMPEL-LEEDE-Versuch positiv aus.

Nach dem klinischen Bild und den Laboruntersuchungen stellten wir die Diagnose einer anaphylaktischen Purpura.

Wir behandelten das Kind anfangs nur mit Tardocillin und Bettruhe. Am 4. Behandlungstag trat jedoch ein neuer anaphylaktoider Schub auf, so daß wir über 14 Tage Decortin geben mußten. Am 8.2.66 haben wir den Jungen bei Wohlbefinden nach Hause entlassen.

Fall 7: W.R. - geb. 27.12.¹⁹54 -

Wegen Fieber, Gelenkschmerzen und einer zunehmend größer werdenden Schwellung im Bereich der linken Halsseite wurde das Kind in der Chirurgischen Klinik Heidelberg aufgenommen. Dort wurde der vorliegende linksseitige Halstumor in Toto exstirpiert.

Histologisch handelte es sich um ein faserarmes Retikulo-Sarkom.

Am 11.1.1966 wurde der Junge zur Nachbehandlung in unsere Klinik verlegt. Hier wurde sofort eine Bestrahlungstherapie eingeleitet; die neu auftretenden Schwellungen am Oberkiefer und auf dem ganzen Gaumen kamen unter der Bestrahlung zu einer guten Rückbildung. Während der Zeit vom 20.1. bis 31.1.66 hat er zusätzlich noch Decortin bekommen. Da die multiplen Metastasen auch an mehreren Körperteilen auftraten, gingen wir von der Bestrahlung zu einer Endoxan-Stoß-Therapie über. Am 25.4.66 wurde der Pat. in erträglichem Zustand vorübergehend nach Hause entlassen.

Fall 8: K.K. - geb. 7.6.¹⁹62 -

Es handelt sich um den gleichen Patienten wie Fall 5. Bei dem am 6.3.66 aus unserer stationären Behandlung entlassenen Kind bemerkte die Mutter am 9.4.66, daß die Augenlider angeschwollen waren, und außerdem die Urinportionen auffällig klein gewesen sein sollen.

Nach den Laboruntersuchungen handelte es sich um ein Rezidiv der vorausgegangenen Diagnose "Nephrose". Wir haben den Jungen sofort mit strenger Bettruhe, Celestan und Baycillin behandelt. Unter dieser Therapie schwemmte der Junge die Ödeme sowie den Aszites aus; die Eiweiß-Ausscheidung ging zurück, so daß wir Celestan allmählich reduzieren konnten. Da er auch unter Belastung eiweißfrei blieb, haben wir ihn am 3.5.66 in gutem AZ nach Hause entlassen.

Fall 9: H.A. - geb. 9.9.¹⁹65 -

Aus der Familienanamnese ist ersichtlich, daß die Schwester des Patienten im Alter von 15 Monaten an einem nephrotischem Syndrom und einer Lipoid-Speicher-Krankheit NIEMANN-PICK verstorben ist; sonst ist die Anamnese unauffällig.

Im Alter von 4 Wochen wurde der Patient wegen Cyanose, Hepatomegalie und Zeichen allgemeiner Lebensschwäche in unsere Klinik aufgenommen.

Zunächst konnte aufgrund der klinischen und der Laborbefunde eine Speicherkrankheit angenommen werden. Überraschenderweise ergab die auf der Suche nach Speicherzellen durchgeführte Knochenmarkpunktion ein einförmiges, unreifes Zellmaterial wie bei Stammzellen - Haemoblastose und keinen Anhalt für Speichervorgänge. Im peripheren Blutbild fand man zu diesem Zeitpunkt 20 Leukosezellen. Die Diagnose Leukose war jetzt sichergestellt. Die Behandlung erfolgte mit Decortin unter antibiotischer Abschirmung. Trotz Remissionen und zusätzlicher Behandlung mit Pri-Nephthol schritt die Krankheit weiter fort. Schließlich erlag das Kind am 22.5.66 einer zunehmenden Kachexie.

Fall 10: B.R. - geb. 28.1.¹⁹56 -

Das 10jährige Mädchen wurde uns am 7.2.66 wegen eines eine Woche vor der Aufnahme auftretenden Hautausschlages überwiesen.

Bei der Aufnahme-Untersuchung war die Patientin in gutem AZ. und EZ. An Händen und Füßen, sowie an den Extremitäten-Streckseiten, sowie auf der linken Gesichtshälfte bestanden flächenhafte, bläulich gefärbte z.T. kokardenförmige konfluierende Effluoreszenzen.

Die Laborbefunde von BKS, Blutbild und Differentialblutbild waren o.B.

Antistreptolysintiter war mit 320 E positiv, C-reaktives Protein negativ.

Wir behandelten mit Decortin über 3 Wochen unter der Diagnose Erythem~~a~~ exsudativum multiforme. Wir habem~~a~~ das Mädchen nach Abklingen der Hauterscheinungen bei Wohlbefinden am 10.3.66 nach Hause entlassen.

Fall 11: H.E. - geb. 18.7.53 -

Die 12 1/2jährige Patientin kam am 9.2.66 zur stationären Aufnahme. Seit Monaten bestanden linksseitige rezidivierende Bauchschmerzen. Häufig wechselte Diarrhoe mit tagelanger Obstipation. Bei der Erstuntersuchung war im linken Mittelbauch ein Druckschmerz zu eruieren. Die Leber sowie die Milz waren leicht vergrößert.

Die Laboruntersuchungen zeigten eine leichte Hyperbilirubinämie. Die anderen Befunde, wie BKS, Blutbild SGOT, SGPT, waren im Normbereich. Die WIDAL'sche Reaktion war negativ. Die Stuhluntersuchung auf Erreger und Wurmeier war ebenfalls negativ. Die Magen-Darm-Passage zeigte eine vermin-

derte Reinigungsfunktion des Magens und erhebliche atrophische Schleimhautveränderungen im unteren Dünndarmbereich. Wegen der Hyperbilirubinämie führten wir eine Cholecystographie durch. Sie zeigte lediglich eine mangelhafte Entleerung der Gallenblase ohne sonstige Funktionsstörung der Leber.

Unter der Annahme einer Cholitis allergischer Genese behandelten wir die Pat. mit Paraxin und Urbason. Die Beschwerden gingen danach rasch zurück, so daß wir sie am 8.3.66 nach Hause entlassen konnten.

E. ERGEBNISSE

Die Kinder wurden wegen verschiedener Krankheiten mit Glucocorticoïden behandelt. Bei den Fällen 1, 2, 3, 4, 5, 8 und 10 wurden die Glucuronsäurewerte im Blutserum und im Harn vor und gegen Ende der Behandlung untersucht. Die gefundenen Werte sind in der Tabelle 1 eingetragen.

Bei den Fällen 1, 3, 6, 7, 9, 10 und 11 wurden die Glucuronsäurewerte im Blutserum und im Harn gegen Ende und 3 Tage nach Absetzen der Behandlung untersucht. Die gefundenen Werte sind in Tabelle 2 eingetragen.

Da die Glucuronsäure im Blutserum in eiweißgebundener und nicht eiweißgebundener Form vorliegt, haben wir ihre Werten dementsprechend getrennt in die Tabellen eingetragen.

Tabelle 1: Glucuronsäurewerte im Serum und im Harn vor und gegen Ende
der Behandlung mit Glucocorticoiden bei Kindern

Fall Nr.	Name	Alter	Diagnose	Präparat und Gesamtdosis	A. Eiweißgebundene Glucuronsäure im Serum (mg%) B. Nichteiweißgebundene Glucuronsäure im Serum (mg%) C. Glucuronsäure im 24-Stunden-Urin (mg)	
					vor d. Behandlung	gegen Ende der Behandlung
1	St.C.	10/12	BNS-Krämpfe	Urbason 100 mg	A. 18,5 B. 5,0 C. 156,0	A. 9,5 B. Spur C. 80,0
2	M.L.	3/12	Retikulo- se	Decortin 667,5 mg	A. 17,0 B. 5,0 C. 143,0	A. 11,0 B. Spur C. 44,0
3	K.K.	3 7/12	Nephrose	Celestan 970 mg	A. 11,5 B. 6,0 C. 133,0	A. 7,5 B. 2,5 C. 115,5
4	L.S.	2 9/12	chronisch. Nephritis	Decortin 200 mg	A. 9,0 B. 3,5 C. Spur	A. 7,5 B. 2,5 C. 62,5
5.	T.O.	11 7/12	rheumatoide Arthritis	Decortin 980 mg	A. 9,0 B. 6,5 C. 181,5	A. 5,5 B. 8,5 C. 294,0
8	K.K.	3 9/12	Nephrose Rezidiv	Celestan 66,6 mg	A. 6,0 B. 1,0 C. 98,0	A. 19,0 B. 2,5 C. 104,0
10	B.R.	10	Erythema exsudativum multiforme	Decortin 310 mg	A. 14,5 B. 3,0 C. 60,0	A. 10,0 B. 2,0 C. 245,0

Tabelle 2: Glucuronsäurewerte im Serum und im Harn gegen Ende
und 3 Tage nach Absetzen der Behandlung mit Glucocorticoiden

Fall Nr.	Name	Alter	Diagnose	Präparat und Gesamtdosis	A. Eiweißgebundene Glucuronsäure im Serum (mg%) B. Nichteiweißgebundene Glucuronsäure im Serum (mg%) C. Glucuronsäure im 24-Stunden-Urin (mg)	
					nach vor d. Behandlung	gegen Ende d. Behandlung
1	St.C.	10/12	BNS-Krämpfe	Urbason 100 mg	A. 9,5 B. Spur C. 0,80	A. 9,0 B. 6,0 C. 15,8
3	K.K.	3 7/12	Nephrose	Celestah 970 mg	A. 7,5 B. 2,5 C. 115,5	A. 6,5 B. 6,0 C. 1151,3
6	B.A.	3 3/12	Anaphylaktoide Purpura	Decortin 190 mg	A. 16,0 B. 2,5 C. 60,0	A. 18,0 B. 1,0 C. 112,5
7	W.R.	11 1/2	Retikulo-Sarkom	Decortin 500 mg	A. 12,0 B. 3,5 C. 288,7	A. 12,0 B. 4,0 C. 70,0
9	H.A.	1/12	Stammzellen-Leukämie	Decortin 280 mg	A. 17,5 B. 1,0 C. -	A. 12,0 B. 1,0 C. -
10	B.R.	10	Erythema exsudativum multiforme	Decortin 310 mg	A. 10,0 B. 2,0 C. 245,0	A. 10,5 B. 1,5 C. 205,0
11	H.E.	12 7/12	Colitis	Urbason 242 mg	A. 11,0 B. 6,0 C. 192,5	A. 11,0 B. 7,5 C. 332,5

Bemerkung: Im Fall 9 wurde der Glucuronsäurewert im Harn nicht untersucht, da es schwierig war, einen 24-Stunden-Urin bei einem 4 Wochen alten Säugling zu sammeln

F. DISKUSSION

nach einem einführenden Einblick in die Stoffwechselvorgänge der Glucuronsäure und die Biosynthese der Glycocorticoide wurden verschiedene Methoden zur quantitativen Bestimmung der Glucuronsäure angegeben und besprochen.

In unseren Experimenten haben wir zu dieser quantitativen Bestimmung die Naphthoresorcin-Methode angewandt.

In einer salzsäurehaltigen Naphthoresorcin-Lösung läßt sich Glucuronsäure durch den resultierenden blauen Farbstoff mit Hilfe eines Spektrophotometers in der Gegend der Natriumlinie des Spektrums nachweisen. Bei dem gebildeten blauen Pigment handelt es sich um ein Xanthen-Derivat, und zwar um ein Dinaphthylmethan-Derivat oder dessen Resonanzform.

Die einzige Möglichkeit, daß Fehler in den Ergebnissen entstehen könnten, läßt sich auf eine evtl. mangelnde Spezifität der Reaktion zurückführen. HEYNS und KELCH (1953) haben behauptet, daß Glucose beim Erhitzen in mineral-saurer Naphthoresorcin-Lösung ebenfalls einen blauen Farbstoff ergibt. Bei Diabetes mellitus wird der stark erhöhte Blutzuckerspiegel demnach Fehlresultate liefern, die korrigiert werden müssen.

LAWRENCE (1964) hat mit dieser Methode Glucose in Konzentration von 100 mg% und 200 mg% untersucht, und fand dabei keine wesentliche Beeinträchtigung, da die Glucose immer eindeutig grünen Farbstoff ergab. Die Spezifität der Naphthoresorcin-Methode-Reaktion ist also ausgezeichnet. Von allen untersuchten Kohlenhydraten, sowohl Pentosen als auch Hexosen, stört keine in erheblichem Maße.

Insgesamt wurden in dieser Versuchsserie 11 Kinder untersucht.

Bei 7 Kindern wurden Glucuronsäure-Konzentrationen im Serum und Harn jeweils vor und gegen Ende der Behandlung mit Glucocorticoiden quantitativ bestimmt. (s. Tab. 1)

Bei weiteren 7 Kindern dieser Versuchsreihe (s. Tab. 2) wurde Glucuronsäure-Konzentrationen im Serum und Harn gegen Ende und 3 Tage nach Absetzen der Behandlung quantitativ bestimmt.

Die nichteiweißgebunden^{en} und eiweißgebundenen Anteile sind getrennt voneinander bestimmt worden.

Die in den Tabellen eingetragenen Serumwerte der Glucuronsäure stimmen überwiegend mit denen von HAROLD (1964) gefundenen Werten überein. Er fand, daß der gesamte Glucuronsäuregehalt im Serum bei einem Durchschnittswert von 11,5 mg% hat, wobei sich 3,5 mg% frei in Lösung befinden und 8 mg% an die Protein-Moleküle gebunden sind. Außerdem stellte er fest, daß mit zunehmendem Alter des Kindes der Glucuronsäurewert im Serum ansteigt. Beim Übergang vom Säugling zum Kind erhöht sich der nicht eiweißgebundene Anteil jedoch relativ schneller als der eiweißgebundene Anteil.

In der Literatur findet man allerdings einen niedrigeren Glucuronsäurewert im Blut.

FRETWURST und AHLIM⁵³ (1966) finden je nach Methode 4 - 6 - 8 mg% Glucuronsäure im Blut. HOLLMANN und WILLE (1966)⁵² geben nach Naphthoresorcin-Methode von MOZOLOWESKI im Blut sogar 1,5 - 2,2 - 2,8 mg% unabhängig von der Nahrung an.

Da in unseren Untersuchungen nur die relativen Werte von Interesse sind, können wir diese geringen Abweichungen vernachlässigen.

Andererseits stimmen die von uns gefundenen Urinwerte durchaus mit denen in der Literatur angegebenen überein. Der Normalwert der täglichen Ausscheidung liegt zwischen 0,04 - 0,4 g.

HAROLD gibt in seiner Arbeit ebenfalls diesen Durchschnitts-Urinwert an; diesen errechnete er bei 13 Säuglingen (bis zu 34 Wochen alt) aus den Urinwerten, die zwischen 0,11 - 0,35 g lagen.

Die Tabellen unserer Ergebnisse zeigen, daß durch die Behandlung mit Glucocorticoiden eine deutliche Abnahme des eiweißgebundenen und freien Glucuronsäurespiegels im Serum zu beobachten ist. Wir finden lediglich im Fall 8 bei der freien und der eiweißgebundenen Glucuronsäure, im Fall 5 dagegen nur bei der freien Glucuronsäure eine Erhöhung, die auf experimentelle Fehler zurückzuführen sein könnte. Es zeigt sich weiter, daß nach Absetzung der Behandlung der gesunkene eiweißgebundene Glucuronsäurespiegel die Tendenz besitzt, denselben Wert eine zeitlang beizubehalten. Die freien Glucuronsäurewerte steigen sofort auf die Ausgangswerte an. Die ausgeschiedene Glucuronsäure im Harn ergibt verschiedene Werte, so daß man annehmen kann, daß sie keine Beziehung zu der Behandlung haben.

Da Glucuronsäure für viele Entgiftungsprozesse verantwortlich ist, könnte ihre Verminderung durch langdauernde Glucocorticoid-Behandlung theoretisch eine Störung dieser Prozesse verursachen.

In der Praxis führt jede Glucocorticoidbehandlung, besonders bei höherer Dosierung schon frühzeitig zu vielen unerwünschten Nebenwirkungen. Eine Störung in den Entgiftungsprozessen kann deshalb nicht entstehen, weil man wegen der Nebenwirkungen die Dosierung schon während der Behandlung allmählich reduzieren muß bzw. gezwungen ist, das Medikament eventuell während der Behandlung abzusetzen.

In unseren Untersuchungen haben wir in keinem einzigen Fall eine Vergiftungserscheinung beobachten können. Die beiden Kinder in Fall 2 und Fall 9 sind trotz intensiver Behandlung zum Exitus gekommen, der sicherlich auf die Grunderkrankung zurückzuführen ist.

Es muß hinzugefügt werden, daß die Verminderung des Glucuronsäuregehaltes nicht unbedingt die Folge einer Corticoidbehandlung sein muß, da alle Patienten auch noch andere Medikamente, und zwar hauptsächlich Antibiotika, bekommen haben.

Bei der Behandlung von Diabetikern mit Silubin und Insulin hat D. Müting nachgewiesen, daß diese Medikamente einwandfrei zu einer Störung des Glucuronsäurestoffwechsels führen. Nach 5 Monate langer Behandlung mit Silubin oder mit Silubin und Insulin nimmt die Glucuronsäureausscheidung im Urin leicht zu. Jedoch befindet sich dieser Anstieg noch im Bereich der Norm. Dagegen steigt der Glucuronsäuregehalt im Serum nur unwesentlich an. Auch bei alleiniger Insulinbehandlung über längere Zeiträume konnte eine Vermehrung der Glucuronsäureausscheidung geringeren Grades beobachtet werden.

In unserer Arbeit ist die Verminderung des Glucuronsäure=
gehaltes im Serum während einer Glucocorticoidtherapie
wahrscheinlich die Folge einer verstärkten Glucuronidaus=
scheidung im Harn.

Beck (siehe Einleitung) hat bei Ratten das gleiche
Phänomän eindeutig nachweisen können.

G. ZUSAMMENFASSUNG

Der Einfluß der Glucocorticoide auf Glucuronsäure im Serum und im Harn wurde bei 11 Kindern untersucht. Mit Hilfe der Naphthoresorcin-Farbreaktion und anschließender kolorimetrischer Bestimmung wurden die Glucuronsäurewerte vor, gegen Ende und nach Absetzen der Behandlung gemessen. Die gefundenen Werte wurden auf Tabellen eingetragen.

Es konnte festgestellt werden, daß die Behandlung mit Glucocorticoiden eine Verminderung des freien, wie des eiweißgebundenen Glucuronsäuregehaltes im Serum bedingt. Nach beendeter Therapie steigt die nicht eiweißgebundene Glucuronsäure in kurzer Zeit auf den ursprünglichen Wert an. Die eiweißgebundene Glucuronsäure dagegen behält den verminderten Wert eine zeitlang bei.

Ein Einfluß des Cortisons auf den ausgeschiedenen Glucuronsäuregehalt im 24-Stunden Urin scheint nicht zu bestehen.

Die Verminderung des Glucuronsäuregehaltes im Serum ist wahrscheinlich die Folge einer vermehrten Glucuronidausscheidung im Harn.

H. LITERATURVERZEICHNIS

ARTZ, G.,
OSMAN, B.,

Biochemistry of Glucuronic Acid
N Y Academic Press Inc., 1950

BECK, K.,
AZIMI, F.,
REISERT, P.M.

Über den Einfluß synthetischer
Glucocorticoide auf die Bildung
und Ausscheidung gepaarter
Glucuronsäuren
I. Mitteilung, "Klinische Wochen=
schrift", 45. Jahrgang, 8. Heft,
S. 428 - 434, 15. April 1967

BECK, K.,
REISERT, P.M.,
BAYER, H.W.,

Über den Einfluß synthetischer
Glucocorticoide auf die Bildung
und Ausscheidung gepaarter
Glucuronsäuren
II. Mitteilung, "Klinische Wochen=
schrift", 42. Jahrgang, 11. Heft,
S. 524 - 527, 1. Juni 1964

BEUTLER, R.A.,
A.W. FORST,
K. MOTHERS,
E. OHMANN,
H. REINBOTHE,
H.R. SCHULTE

Der Stoffwechsel
II. Teil, S. 455 - 568, 1966
Springer-Verlag,
Berlin-Heidelberg-New York

BILLING, H.B.,

Biochem. J. (Lond.):
65, 774 (1967)

BILLING, H.B.,
P.G. COLE,
G.H. LATHE,

Brit. Med. J.
II, 1263 (1954)

BROWN, A.,
W. ZWELZER,

Studies on the Neonatal
Development of the Glucuronide
Conjugating System

J. clin. Invest.:
37, 332 - 340 (1960)

FANCONI, G.,
A. WALLGREN,

Lehrbuch der Pädiatrie
Verlag Schwabe & CO.,
Basel - Stuttgart
1967, S. 354

FRETWURST, F.,
H. A. AHLHEIM,

Arch. exp. Path. Pharmacol:
382, 217 (1953)

HAROLD, H.,

Glucuronsäure an gesunden
Säuglingen
Dissertation, Heidelberg 1964

HEYNS, R.,
Kelch, J.,

Anal. Chem.:
139. 339 (1953)

HINSBURG, K.,
LANG, K.,

Medizinische Chemie für
den klinischen und theoretischen
Gebrauch
S. 410 - 415, 1957
Verlag - Urban u. Schwarzenberg,
München-Berlin-Wien

HOLLMANN, S.,
E. WILKE,

Zur physiol. Chemie
290, (1952) : 91

HSIA, D.,
RAIBOO, S.,
DOWBEN, R.M.

Inhibition of Glucuronosyl-
Transferase by Steroid Hormones
Archives of Biochemistry and
Biophysics,
Volme 103, S. 181 - 185
November 1963

HSIA, D.,
DOWBEN, R.,
SHAW, R.,

Inhibition of Glucuronosyl-
Transferase by Progestational
Agents from Serum of Pregnant
Women,
Reprint from Nature,
Vol. 187, Nor.4738, pp. 693 -694
August 20, 1960

ISSELBACHER, K.J.,
(et al.)

The Solubilisation and Partial
Purification of a Glucuronyl-
transferase from Rabbit liver
Microsomes

J. biol. Chem. :
237, 3033 (1962)

KARUNAIRATNAM, M.D.,
KERR, L.M.H.,
LEVY, G.A.,

Biochem. I.,
45, 496 (1949)

KUSCHINSKY, G.,
H. LÜLLMANN,

Kurzes Lehrbuch der Pharma-
kologie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart,
S. 192, 1964

LAWRENCE, E.,

Glucuronsäurestudien an
leberkranken Säuglingen
Dissertation, Heidelberg 1964

LEHNARTZ, E.,

Chemische Physiologie,
Springer-Verlag, Heidelberg-
Göttingen-Berlin
S. 15 - 16 und S. 434 ff
1959

Müller-Seifert,

Taschenbuch der medizinischen
klinischen Diagnostik,
München, Verlag von J.F. Berg-
mann
S. 308, 1962

M'TING, D.,

Untersuchungen über die
Wirkung eines Biguanids auf
den Eiweißstoffwechsel und
die Entgiftungsleistung der
Leber bei Diabetes mellitus

Dtsch. med. Wschr.:
34, 1583-1586 (1964)

PULKKINEN, M.,
RAURAMO, L.,

The Effect of Serum from
Pregnant and Non-Pregnant
Women on UDPGA- Transferase
and on the o-Aminophenol
Glucuronide Formation

Reprint from Ann.Med. exp.
Fenn.
Vol. 41, Fasc. 1, 1963

RAURAMO, L.,
PULKKINEN, M.,
HARTIALA, K.,

Glucuronide Formation in
Parturients
Reprint from Ann. Med. exp.
Fenn.
Vol. 41, Fasc. 1, 1963

REIN, H.,
M. SCHNEIDER,

Physiologie des Menschen
Springer Verlag
Berlin-Göttingen-Heidelberg
S. 350 - 357, 1960

Zum Schluß der Arbeit möchte ich Herrn
Prof. Dr. med. K. Schreier für die Stellung
des Themas und für die Überlassung eines
Arbeitsplatzes an seiner Klinik herzlich
danken.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. med. Porath,
für Ihren mir jederzeit gewährten Rat und
Hilfeleistung bei der Durchführung der
experimentellen Arbeiten.

L E B E N S L A U F

Am 29. April 1937 wurde ich als Sohn des Kom Koo Ng, Dipl.Chemiker (zur Zeit Fabrikant), und seiner Ehefrau Chiu Yin geb. Chan in Manila (Philippinen) geboren.

Dort wohnten wir 10 Jahre, bevor wir nach Hong-Kong zogen. Ich besuchte dort die High-School und bestand 1955 die Abschlußprüfung (Leaving School Certificate Examinations). Im August desselben Jahres ging ich nach Montreal (Canada) und studierte fünf Jahre an der McGill-Universität Chemie; ich erwarb den Grad eines Bachelor of Science (B.Sc.).

Darauf kehrte ich nach Hong-Kong zurück, studierte an der dortigen Universität für ein weiteres Jahr Chemie und schloß dieses Studium mit der Prüfung für den Grad des B.Sc. Special ab. Bevor ich nach Heidelberg ging, arbeitete ich ein halbes Jahr als Assistent im Chemischen Laboratorium der Universität Hong-Kong.

1962 nahm ich mein Studium der Medizin an der Universität Heidelberg auf und legte im Februar 1968 mein Staatsexamen ab. Vom 1. Mai bis zum 31. Oktober 1968 war ich als Medizinal-Assistent an dem Städtischen Krankenhaus in Ludwigshafen tätig. Seit dem 1. November 1968 arbeite ich im Stiftungs-Krankenhaus in Speyer.

Ich bin britischer Staatsangehöriger.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hög, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990
